

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В СООТВЕТСТВИИ С  
ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) ВСЕМИРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ  
Международное бюро



РСТ



(43) Дата международной публикации:  
12 мая 2005 (12.05.2005)

(10) Номер международной публикации:  
WO 2005/042015 A1

(51) Международная патентная классификация <sup>7</sup>:  
A61K 39/245; A61K 35/76; A61K 9/02; A61K 39/39;  
A61K 31/198; A61K 31/787; A61P 31/22

(21) Номер международной заявки: РСТ/RU2004/000414

(22) Дата международной подачи:  
20 октября 2004 (20.10.2004)

(25) Язык подачи: русский

(26) Язык публикации: русский

(30) Данные о приоритете:  
2003131814 30 октября 2003 (30.10.2003) RU  
2004128635 27 сентября 2004 (27.09.2004) RU

(71) Заявитель (для всех указанных государств, кроме  
(US): ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТ-  
ВЕТСТВЕННОСТЬЮ «РУСГЕН» [RU/RU];  
123056 Москва, ул. Б. Грузинская, д. 39, стр. 1 (RU)  
[OBSHCHESTVO S OGRANICHENNOI OTVET-  
STVENNOSTYU «RUSGEN», Moscow (RU)].

(72) Изобретатели: и

(75) Изобретатели/Заявители (только для (US): МУСА-  
ЕВА Адиль Рафик кызы [RU/RU]; 123022 Мос-  
ква, ул. 1905 года, д. 25, кв. 67 (RU) [MUSAEVA,  
Adilya Rafik kyzy, Moscow (RU)]; БАРИНСКИЙ  
Игорь Феликсович [RU/RU]; 123060 Москва, ул.  
Маршала Конева, д. 9, кв. 3 (RU) [BARINSKY, Igor  
Felixovich, Moscow (RU)]; ЛАЗАРЕНКО Алла  
Арнольдовна [RU/RU]; 117535 Москва, ул. Росо-  
шанская, д. 13, корп. 1, кв. 397 (RU) [LAZAREN-  
KO, Alla Arnoldovna, Moscow (RU)]; ПЕТРОВ  
Рэм Викторович [RU/RU]; 117334 Москва, ул.  
Академика Зелинского, д. 38, корп. 8, кв. 86 (RU)  
[PETROV, Rem Viktorovich, Moscow (RU)];

ХАИТОВ Рахим Мусаевич [RU/RU]; 123056  
Москва, ул. Б. Грузинская, д. 39, кв. 120 (RU)  
[KHAITOV, Rakhim Musaevich, Moscow (RU)];  
ХАИТОВ Муса Рахимович [RU/RU]; 123056  
Москва, ул. Б. Грузинская, д. 39, кв. 120 (RU)  
[KHAITOV, Musa Rakhimovich, Moscow (RU)].

(81) Указанные государства (если не указано иначе, для  
каждого вида национальной охраны): AE, AG,  
AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BW,  
BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,  
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR,  
HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,  
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN,  
MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL,  
PT, RO, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN,  
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA,  
ZM, ZW.

(84) Указанные государства (если не указано иначе, для  
каждого вида национальной охраны): ARIPO  
патент (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD,  
SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), евразийский патент  
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
европейский патент (AT, BE, BG, CH, CY, CZ,  
DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU,  
MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), патент OAPI  
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,  
MR, NE, SN, TD, TG).

Опубликована

С отчётом о международном поиске.

В отношении двухбуквенных кодов, кодов языков и дру-  
гих сокращений см. «Пояснения к кодам и сокращениям»,  
публикуемые в начале каждого очередного выпуска Бюл-  
летеня РСТ.

(54) Title: PHARMACEUTICAL ANTI-HERPETIC COMPOSITION, METHOD FOR PRODUCING A DOSAGE FORM  
BASED THEREON AND METHOD FOR THE USE THEREOF

(54) Название изобретения: ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ПРОТИВОГЕРПЕТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СПОСОБ  
ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ НА ЕЕ ОСНОВЕ И СПОСОБ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

(57) Abstract: The inventive anti-herpetic composition comprises a virion drug containing herpes simplex viruses of a 1 and 2  
serotypes inactivated by formalin or -radiation. Said composition also comprises high-technology immunomodulator  
polyoxidone, valine and lysine amino-acids and a combination comprising at least two amino-acids selected from a group:  
phenylalanine, leucine, alanine, threonine, histidine, arginine, methionine and can comprise isoleucine capable to stimulate  
formation of anti-herpetic peptides at cellular level. The composition can be embodied in the form of different pharmaceutical  
formulations and the characteristics thereof make it possible to use said composition for acute and chronic herpetic pathology.

(57) Реферат: Предложена новая противогерпетическая композиция, содержащая вирионный препарат, в котором  
содержатся вирусы простого герпеса серотипов 1 или 2, инактивированные формалином или  $\gamma$ -излучением,  
дополнительно содержит в своем составе высокотехнологичный иммуномодулятор полиоксидоний, а также  
аминокислоты валин и лизин, кроме того комбинацию, состоящую не менее, чем из 2-х аминокислот, выбранных из  
группы: фенилаланин, лейцин, аланин, треонин, гистидин, аргинин, метионин, а также может содержать изолейцин,  
который способен на клеточном уровне стимулировать образование антигерпетических пептидов. Композиция может  
быть представлена в виде различных фармацевтических форм, а по своим свойствам может быть использована не  
только при острой, но и хронической форме герпесной патологии.



WO 2005/042015 A1

**Фармацевтическая противогерпетическая композиция,  
способ получения лекарственной формы на ее основе  
и способ использования**

5

***Область техники***

Изобретение относится к области иммунологии, в частности к созданию новой фармацевтической противогерпетической композиции, получению лекарственной формы на ее основе и способу использования.

10

***Предшествующий уровень техники***

В настоящее время распространены следующие химиопрепараты против вируса герпеса: ацикловир, виразол, фоскарнет, видарабин и др. [1]. Специфической активностью в отношении вируса герпеса обладают соответствующие вакцины. Ряд противогерпетических вакцин, в том числе на основе инаktivированных вирионов, разработан, как в России, так и за рубежом, например, они описаны в патентах РФ № 2014084, 1994г., № 2085582, 1997г., № 2085583, 1997г., в патентах США №4816250, 1989г., № 5215745, 1993г., № 5602023, 1997г.

В самые последние годы разработаны вакцинные противогерпетические препараты, учитывающие генетическое строение герпесвируса, включающие фрагменты ДНК и некоторые другие компоненты.

Например, рекомбинантная герпесвирусная вакцина, содержащая фрагменты ДНК, а также пептиды, которые он кодирует (патент US №6387376 от 14 мая 2002г.). Эта вакцина может использоваться при перитонеальной инфекции. Комплексная герпесвирусная вакцина, содержащая вирус простого герпеса, а также гликопротеин (gp) D и деацилированный монофосфат липида A (заявка Кипра, цитируется по тождественной заявке US 2002147167 от 10.10.2002).

Вакцина, содержащая инаktivированные вирусы герпеса, преимущественно локализованные в атеросклеротических бляшках. Это – поливалентная вакцина, содержащая HSV-1, HSV-2, HSV-6, человеческий цитомегаловирус, Эпштейн-Бар – вирус в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем или растворителем (патент US 6471965 от 29.10.2002), рекомбинантная ДНК, кодирующая герпесвирусные гликопротеины : gp50, gpII, gpIII, gpI, HSV gD, бычий герпесвирус gI, HV gB, EB VgB, gH, человеческий цитомегаловирус gB (патент NL 9900034 от 1.10.2003).

Вакцина, содержащая гликопротеин D2t, против вируса простого герпеса, а также адъюванты TH-1, 3-DMPL или соли алюминия (опубликованная заявка EP 1109574 от 29.04.2003). Известна также вакцина против простого вируса, представляющая собой пептидные эпитопы, характерные для HSV (опубликованная заявка WO 03099860 от 27.11.2003). Одна из самых последних разработок – живая вакцина на основе герпесвируса-мутанта, работающая в организме при температуре 38,5°C или выше. Пригодна для животных (патент US 2004076642 от 22.04.2004 г.).

Из вышесказанного следует, что в комплексную терапию целесообразно включение иммунокомпетентных веществ, таких как интерфероны и антиоксиданты, как рекомендовано в наших предыдущих разработках (см. напр. патент РФ 2142816, 1999г.), где показана также одна из удобных для пациента лекарственных форм (в виде суппозитория). Эту разработку считаем близким аналогом настоящего изобретения.

Химиотерапевтические средства не всегда достаточно эффективны, поскольку не обладают специфическим действием в отношении только вируса герпеса, в принципе полиактивны и могут быть использованы при других вирусных заболеваниях.

Перечисленные выше вакцинные препараты хотя и являются специфическими и изготовлены на основе инаktivированных и ослабленных штаммов вируса герпеса, но не все из них пригодны для лечения человека. Для успешной борьбы с вирусом у высокоорганизованного организма, особенно человека, необходимо учитывать гуморальные и клеточные факторы, состояние иммунной системы, степень поражения вирусом, стадию заболевания (латентная инфекция, обострение и т.п.).

В свое время эксперименты с вирусом простого герпеса (ВПГ-1), относящегося к подсемейству Alphaherpesvirinae, выявили его иммунодепрессивную активность. Ингибирование Т-клеточной пролиферации может сочетаться с дефектом гуморального ответа на гетерологичный антиген. Сложный характер взаимодействия вируса герпеса простого, серотип 2 (ВПГ-2) с иммунной системой мышей демонстрирует факт усиления чувствительности хозяина к инфекции вирусом Коксаки В при сохранении нормального ответа на эритроциты барана. Заражение альвеолярных или перитонеальных макрофагов ведет к подавлению их способности выполнять функцию эффекторов антителозависимой цитотоксичности. В разные сроки после введения вирус подавляет фагоцитарную активность макрофагов брюшной полости мышей. На ранних сроках инфекции у альвеолярных макрофагов определяли временное повышение фагоцитарной активности, сменяющееся

подавлением этой функции. Исследовали иммунодепрессивную активность вируса, моделируя этот эффект в культуре периферических мононуклеарных клеток крови человека. После заражения и соответствующей инкубации выделяли естественные киллеры (ЕК) и определяли их цитотоксичность. В ходе работы с описанной  
5 системой установлено, что вирус подавляет цитотоксическую функцию ЕК только в том случае, когда в культуре периферических мононуклеарных клеток находятся моноциты. Удаление последних из системы отменяет развитие вирусиндуцированной супрессии, после внесения моноцитов иммунологический дефект вновь формируется. Было также установлено, что развитие одного из типов супрессии, обусловленной  
10 герпесвирусами, реализуется через моноциты. Имеются данные и о прямом действии герпесвируса на регуляторные Т-клетки, что ведет к нарушению синтеза и способности взаимодействовать с интерлейкином –2 [2].

Таким образом описанные механизмы действия герпетического вируса на иммунокомпетентные клетки и иммунный статус в целом наводят на мысль о  
15 необходимости включения в противовирусные соединения препаратов, специфически влияющих на иммунную систему, а также препаратов, нормализующих клеточный метаболизм при поражении организма вирусом простого герпеса, особенно при вялотекущих, рецидивирующих и плохо поддающихся терапии, имеющих тенденцию к хронизации заболеваний, к которым относится и хроническая вирусная инфекция.

Несмотря на значительные преимущества вышеназванных вакцинных препаратов, в  
20 них не учитываются некоторые важные аспекты состояния организма пациента, пораженного вирусом герпеса. У больных герпесом, особенно хроническими формами, наблюдается нарушение клеточного и гуморального иммунитета, происходит увеличенная секреция глюкокортикоидных гормонов, наблюдается резкое нарушение  
25 обмена пораженных вирусом клеток и тканей.

Как показывают исследования, выбор иммуномодулирующего препарата и схемы его применения на пациентах определяются врачом-иммунологом в зависимости от степени тяжести и вида основного заболевания, сопутствующей патологии, а также выявленного (иногда и скрытого) иммунологического дефекта.

30 При поражении клеток моноцитарно-макрофагальной системы применяют: полиоксидоний, ликолипид. При наиболее тяжелых формах поражения в моноцитарно-макрофагальной системе используют препараты гранулоцитарно-макрофагальных колониестимулирующих факторов: молграмостим (лейкомакс), филграстим (нейпоген).

При дефектах клеточного звена иммунитета применяется один из следующих препаратов: полиоксидоний, тактивин, тимоптин, тимоген, тималин. При нарушении синтеза антител В-лимфоцитами применяют: миелопид, полиоксидоний.

Среди препаратов с иммуностимулирующими свойствами можно выделить три  
5 основные группы, которые применяются в практическом здравоохранении: препараты микробного происхождения (Пирогенал, Продигиозан, Рибомунил, Нуклеинат натрия и другие), препараты эндогенного происхождения: препараты тимуса (Т-активин, Тималин, Тимоптин, Тимактид, Тимостимулин и др.), препараты костно-мозгового происхождения (Миелопид), цитокины (Молграмостин, Реаферон и др.), химически  
10 чистые, синтетические препараты: лечебные препараты с выявленными иммуномодулирующими свойствами (например, диуцифон и др.), аналоги веществ эндогенного происхождения (Ликопид, Тимоген и др.), собственно синтетические препараты (полиоксидоний и др.)[3].

Известно, что высшим живым существам иммунная система необходима для того,  
15 чтобы бороться с инфекционными болезнями, то есть с простейшими живыми организмами-патогенами: бактериями, микробами, грибами, вирусами и т.п. Есть ли иммунитет у беспозвоночных животных, например у насекомых? Поиски ответа на этот вопрос привели к открытию нового класса уникальных веществ.

Иммунной системы, подобной млекопитающим, у насекомых нет. У них  
20 вырабатываются способные блокировать попавшие в организм чужеродные белки. Однако давно известно, что с патогенными микроорганизмами насекомые могут бороться. В 1980 году группе исследователей под руководством Ханса Бомана из Стокгольмского университета (Швеция), удалось установить следующее: гусенице шелкопряда *Hyalophora cecropia* сделали инъекцию раствора, зараженного бактериями, а  
25 затем собрали и проанализировали вещества, которые выделила инфицированная гусеница. В результате ученые получили два новых химических соединения – пептидные молекулы, состоящие из 35-39 аминокислот. Их назвали цекропинами. Антимикробная активность цекропинов оказалась очень высокой [4].

В принципе, антимикробные вещества, представляющие собой короткие молекулы  
30 из 24-40 аминокислот, известны давно. Более полувека назад были выделены антимикробные пептиды грамицидин и низин, которые широко используются в фармацевтической и пищевой промышленности. Давно описаны растительные антибактериальные пептиды и пептиды из пчелиного яда. Тем не менее открытие Бомана

вызвало интерес. Во-первых, выделенные пептиды на первый взгляд очень напоминали давно известное вещество мелиттин, содержащееся в пчелином яде, но с одной небольшой разницей – в отличие от мелиттина, цекропины убивали клетки бактерий только типа *Escherichia coli* (так называемые грамотрицательные бактерии) и совершенно не действовали ни на другие микроорганизмы, ни на клетки высших организмов.

Среди исследователей преобладало мнение, что антимикробные пептиды вырабатываются секреторными органами только низших животных, не имеющих развитой иммунной системы. Было показано, что и млекопитающие – кролики, коровы и даже люди – могут выделять похожие вещества. Причем происходит это преимущественно в области кишечника, респираторного тракта и мочеточников. Пептиды постоянно вырабатываются даже в спокойном состоянии организма, а при инфицировании или повреждении органов происходит всплеск их синтеза.

Антимикробные пептиды, хотя несколько уступают антибиотикам по эффективности, действуют намного быстрее и, что самое главное, уничтожают бактерии, устойчивые к известным антибиотикам. Однако применять в клинике в качестве антибиотиков и антигрибковых средств можно только те пептиды, которые не гемолизуют клетки млекопитающих [5].

Названные пептиды могут «расправляться» с вирусами различными способами. Во-первых, некоторые из них просто взаимодействуют с вирусом непосредственно, блокируя его активность. Таким способом они инактивируют вирусы например, стоматита и даже ВИЧ. Во-вторых, пептиды могут блокировать размножение вирионов ВИЧ в инфицированном организме. Так действуют цекропины и мелиттин.

### ***Раскрытие изобретения***

Технической задачей настоящего изобретения является создание нового, более эффективного и прогрессивного комплексного препарата, который не только специфически воздействовал бы непосредственно на вирус простого герпеса, но и обеспечивал интенсивное иммуномодулирующее действие на организм в целом, мобилизовал бы все резервные возможности организма для борьбы с вирусом на клеточном и гуморальном уровнях.

Поставленная задача решается тем, что вирионный вакцинный антигерпетический препарат, в котором содержатся вирусы простого герпеса серотипов 1 или 2, инактивированные формалином или  $\gamma$ -излучением, дополнительно содержит в своем составе высокотехнологичный иммуномодулятор полиоксидоний, а также

аминокислоты валин и лизин, кроме того комбинацию, состоящую не менее, чем из 2-х аминокислот, выбранных из группы: фенилаланин, лейцин, аланин, треонин, гистидин, аргинин, метионин. Фармацевтическая композиция имеет следующее соотношение компонентов:

5	антигерпетический препарат – $10^6 - 10^7$ бляшкообразующих единиц/мл суспензии		
	полиоксидоний	–	0,03 – 0,06г
	валин	–	0,18 – 0,25г
	лизин	–	0,15 – 0,30г
	комбинация из 2-х метаболических		
10	аминокислот	–	0,12 - 0,27г
	физиологическая жидкая среда	–	до 100 мл

В качестве физиологической среды может быть использована, например среда Игла для приготовления вакцин.

Композиция дополнительно может содержать альбумин человеческий в качестве стабилизатора в количестве 0,22-0,24 г на 100 мл, а также комбинацию из 2-3-х водо- и жирорастворимых витаминов, выбранных из группы: тиамин, рибофлавин, никотинамид, пиридоксин, аскорбиновая кислота ретинол, токоферол или их смеси в общем количестве в составе композиции от 0,05 до 3,5%.

В значительной степени эффективность лечения герпетической инфекции возрастает при включении в композицию *изолейцина* в сравнении контролем на 10-28 %. Изолейцин может содержаться в составе препарата в количестве 0,11 – 0,22г на 100 мл композиции.

Такой препарат пригоден при лечении простого герпеса 1 и 2 типов, для этого подбирают соответствующую каждому виду герпеса комбинацию аминокислот и витаминов, а дозу и кратность применения - в зависимости от состояния пациента.

Основным объектом изобретения является антигерпетическая композиция, которая включает следующие компоненты:

Вирионный вакцинный антигерпетический препарат –  $10^6 - 10^7$  бляшкообразующих единиц/мл суспензии, инактивированный формалином или  $\gamma$ -излучением, полиоксидоний, а также аминокислоты валин и лизин, кроме того комбинацию, состоящую не менее, чем из 2-х аминокислот, выбранных из группы: фенилаланин, лейцин, аланин, треонин, гистидин, аргинин, метионин. Далее

представляем подробное описание новых компонентов и их значение для нашей композиции:

Отечественный иммуномодулятор последнего поколения — полиоксидоний (ПО)- является весьма эффективным иммунокомпетентным средством. ПО - сополимер N-окиси 1,4-этиленпиперазина и (N-карбоксиэтил) - 1,4-этиленпиперазиний бромид, представляет собой лиофилизированную пористую массу с желтоватым оттенком, хорошо растворимую в воде, молекулярная масса от 60000 до 100000. Помимо иммуномодулирующего, ПО обладает выраженным детоксицирующим, антиоксидантным и мембраностабилизирующим эффектом.

В последнее время нами предпринят ряд экспериментов с применением ПО одновременно с использованием антигерпетической вакцины при их совместном применении путем парентерального введения. Эти эксперименты дали положительные результаты на модельных инфекциях у лабораторных животных (кератит у кроликов, генитальный герпес у морских свинок, герпетический менингоэнцефалит у мышей), результаты этих экспериментов приведены в табл.1.

Таблица 1

№№ п/п	Используемые герпесвирусные вакцины	Результаты титрования тест-вирусов в lg ТДЦ 50/мл	Доза Полиоксидо ния в мг на одну инъекцию	Концентрация вируснейтрализующих антител в индексах нейтрализации
1	Убитая вакцина против вируса простого герпеса 1 типа	6,5	— 0,1 0,2	2,3 3,75** 3,3*
2	Убитая вакцина против вируса простого герпеса 1 типа	5,5	— 0,1 0,2	2,0 3,0* 2,5
3	Убитая вакцина против цитомегаловируса человека	5,0	— 0,1 0,2	2,0 3,0** 2,5



Примечание:

Достоверность различия в концентрации вирус нейтрализующих антител у вакцинированных животных без применения Полиоксидония и с его применением.

$**P \leq 0.01$ ;  $*P \leq 0.05$

5 Наши исследования показали, что наилучший эффект для испытуемых с различными формами герпеса является высокотехнологичный синтетический препарат полиоксидоний (ПО).

В условиях *in vivo* ПО обладает более сложным и многогранным эффектом на иммунную систему. Так как развитие любого иммунного ответа начинается с клеток моноцитарно-макрофагальной системы, и так как цитокины, продуцируемые моноцитами/макрофагами, обладают плеiotропным эффектом, то усиление под влиянием ПО их функциональной активности ведет к активации и клеточного, и гуморального иммунитета. Так в частности, при введении ПО совместно с низкими дозами антигена происходит усиление синтеза антител к этому антигену в 5-10 раз по сравнению с контролем. Важно отметить, что такое усиление можно наблюдать у животных с генетически детерминированной слабой реакцией на данный антиген. Таким образом, ПО обладает способностью приводить в движение все факторы защиты организма от чужеродных агентов антигенной природы и это движение распространяется естественным путем так, как это происходит при развитии иммунного ответа в организме. Эти наблюдения позволили нам остановить свой выбор среди множества современных иммуномодуляторов, именно на полиоксидонии для его успешного использования в составе сложной фармацевтической антигерпетической композиции.

Эмпирическим путем нам удалось установить, что весьма эффективными компонентами в составе композиции являются незаменимые аминокислоты валин и лизин, а также еще некоторые аминокислоты, которые выбраны нами из множества известных аминокислот.

Использованные нами аминокислоты обладают следующими свойствами помимо общеизвестных:

30 **Гистидин** – входит в состав карнозина и ансерина, играет важную роль в образовании гемоглобина, необходим для выработки эритроцитов. Способствует регулированию уровня сахара в крови и производству энергии.

**Лейцин** – необходим для роста и заживления костей, мышц. При его метаболизме высвобождается энергия, способствует стабилизации уровня сахара в крови. Обнаружено, что его дефицит может спровоцировать в некоторых случаях

гипогликемию, задержку роста, уменьшение массы тела, изменения в почках и щитовидной железе.

**Лизин** – укрепляет иммунную систему, содействует росту костей и образованию коллагена, улучшает сосредоточенность, обладает прямой антигерпетической активностью. Недостаток в пище лизина приводит к нарушению кровообразования (уменьшается количество эритроцитов, уменьшается содержание в них гемоглобина). Дефицит может привести к истощению мышц, нарушению кальцификации костей, изменениям в печени и легких, особенно у пациентов пожилого и старческого возраста.

**Метионин** – используется для синтеза холина, известен как «липотропный» агент, так как сокращает запас жиров в печени и организме в целом и понижает количество холестерина. Создает новую костную ткань, препятствует заболеваниям ногтей, защищает почки и является природным хелатирующим агентом для тяжелых металлов. Имеет большое значение для функций надпочечников и синтеза адреналина, что очень важно для регуляции обмена в пораженных вирусом клетках.

**Фенилаланин** – связан с функцией щитовидной железы и надпочечников, участвует в образовании ядра для синтеза тироксина – основного гормона щитовидной железы, участвует в образовании адреналина. А организм может преобразовываться в тирозин, который используется для синтеза двух главных нейротрансмиттеров, дофамина и эпинефрина, регулирующих клеточный метаболизм на нейрогуморальном уровне. Эффективен в контроле болевых и зудовых ощущений. Кроме того, благодаря выделению холецистокинина, фенилаланин обладает действием, подавляющим аппетит.

**Валин** – при дефиците валина может повреждаться миелиновое покрытие нервных волокон и возникать отрицательный водородный баланс организма, что чрезвычайно опасно для пациентов, пораженных вирусной инфекцией.

**Аланин** – укрепляет иммунную систему, участвует в метаболизме глюкозы.

**Аргинин** – недостаток может вызывать выпадению волос, запоры, болезни печени и медленное заживление ран, в том числе, вызванных поражением вирусными токсинами.

**Изолейцин** обладает уникальным свойством, которое в составе антивирусной вакцины использовано впервые – эта аминокислота, получаемая только извне (с пищей) стимулирует выработку в организме человека (преимущественно в области кишечника) антимикробных пептидов, подобных цекропинам, которые способны уничтожать вирусы герпеса.

Такая композиция, особенно с добавлением микроэлементов, которое усиливает иммунный ответ на введение препарата, позволяет использовать ее и для более эффективной борьбы с вирусными поражениями герпесом серотипов 1 и 2 и некоторых хронических форм этого заболевания.

5       Еще одним объектом изобретения является способ использования фармацевтической противогерпетической композиции путем введения ее в организм, пораженный вирусом герпеса, при этом в организм вводят композицию, охарактеризованную выше, в эффективной дозе в виде подходящей лекарственной формы подходящим путем, выбранным из группы: перорально, сублингвально, 10 интраназально, ректально, вагинально, парентерально, субконъюнктивально или в форме для разжевывания.

Действие микроэлементов в иммунной системе при герпесе изучалось подробно при использовании суппозиторий, содержащих нашу композицию.

15       Существуют следующие механизмы действия микроэлементов (МЭ) в иммунной системе:

**1. Действие на специфические рецепторы.**

На рецепторы, локализованные на цитоплазматической мембране: HLA-система, МНС-система (Ni, Cr, Hg).

Адгезины : селектины и интегрины (Mn, Hg).

20       Рецепторы к трансферрину (Al, Ga).

Рецепторы, участвующие в ЕК-лизисе (Zn).

Рецепторы цитокинов (Zn).

T - клеточный рецептор (Zn, Hg).

Рецепторы к ионам кальция и магния (Zn, Mn, Be, Cd, Hg и др.).

25       Рецептор к иммуноглобулинам (Zn).

На рецепторы, локализованные во внутриклеточных компартментах: Митохондрии (Fe, Zn), Цитоскелет LIM-белки (Zn, Se, Li).

Внутриклеточные рецепторы к кальцию на митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме (Cd, Zn).

30       **2. Влияние на активность ферментов.**

Многие эссенциальные МЭ являются компонентом каталитического центра ряда ферментов. Например, Mn – эссенциальная часть супероксиддисмутазы (СОД) иммуноцитов, Se – входит в каталитический центр глутатионпероксидазы (изофермент VI ), Zn – важная часть многочисленных фингерных белков,

регулирующих уровень транскрипции других внутриклеточных белков. Существуют также пути воздействия МЭ на активность ферментов, заключающиеся в конкурентном ингибировании или аллостерической активации металлоэнзимов. Например, Zn – конкурентный ингибитор  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  - зависимой эндонуклеазы. Данное действие Zn определило его ведущую роль в иммунной системе как анти-апоптического фактора.

### 3. Влияние на активность гормонов.

- МЭ как составная часть гормонов.

Zn – ключевой компонент тимозина, гормона, реализующего эффекты: тимуса на Т-клеточное звено иммунной системы.

*МЭ и депонирование гормонов.*

Zn, Cr – участвуют в депонировании и стабилизации молекулы инсулина, оказывающего мультимодулирующий эффект на все инсулин-зависимые клетки организма, к которым относятся и иммунocyты. Цинк обеспечивает внутриклеточное депонирование и стабилизацию гормонов нейрогипофиза.

*Участие в деградации и элиминации гормонов.*

Известно, что ангиотензин-конвертирующий фермент, является Zn-зависимым.

Участие в механизме действия гормонов.

### 4. Влияние на белки-переносчики.

Альбумины.

Металлотионеины, которые синтезируются в моноклеарных клетках ретикуло-эндотелиальной системы организма.

Стрессовые белки, как универсальные белки синтезируемые в клетках в ответ на стрессорные воздействия (тепловой шок, голод, УФ-облучение, воздействие тяжелых металлов, хроническая инфекция).

### 5. Физико-химическое действие МЭ на мембраны иммунocyтов.

Обнаружено, что, например, селен может оказывать антиоксидантный эффект, выступая в качестве кофактора глутатионпероксидазы, обеспечивающей инактивацию свободных форм кислорода, рождение которых в иммунной системе обеспечивает как уничтожение или элиминацию чужеродного агента (паразит, бактерия), так и при избыточной продукции синглетного  $\text{O}_2^{\cdot -}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\cdot\text{OH}$  вызывает повреждение мембранного аппарата самих иммунocyтов. Возникновение  $\text{O}_2^{\cdot -}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\cdot\text{OH}$  связано с индукцией реакций Габер-Вейса и Фентона под влиянием переходных металлов (Cu, Zn, Mn, Fe).

Таким образом, МЭ способны через посредничество ферментативных и неферментативных механизмов перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также активацию антиоксидантных механизмов регулировать физико-химические свойства мембран клеток, в том числе и свойство полупроницаемости к различным биологическим субстратам (антигены, инфекционным агентам и т.п.).

6. Воздействие на презентацию, внутриклеточный процессинг и деградацию антигенов (см. пункт1).

7. Воздействие на формирование иммунологической памяти, а также, вероятно, в длительном существовании клеток-памяти играют роль антиапоптотические МЭ (Zn, Se и др.)

8. Воздействие на продукцию иммуноглобулинов (Zn, Be).

9. Влияние на процессы хемотаксиса, адгезии и фагоцитоза [6,7].

Многочисленные испытания на лабораторных животных позволили выбрать наиболее эффективные микроэлементы для включения их в состав разработанной нами лекарственной формы (суппозиторий): 2-3 микроэлемента, выбранных из группы: цинк, хром, селен и никель. Присутствие в составе лекарственной формы указанных микроэлементов усиливает действие выбранного нами иммуномодулятора на 25-30% в сравнении с контролем (без МЭ).

Ниже приводим таблицу 2, где показан уровень иммунологических показателей у экспериментальных животных, зараженных вирусом герпеса, до и после введения в состав композиции, содержащий аминокислоты, в том числе изолейцин, полиоксидония.

Таблица 2

Показатели	До введения полиоксидония	После введения полиоксидония
Лейкоциты (абс)	$7,6 \pm 0,2$	$7,5 \pm 0,1$ $p > 0,05$
Лимфоциты %	$31,1 \pm 1,9$	$31,8 \pm 2,3$ $p > 0,05$
CD 3+ %	$58,5 \pm 2,2$	$72,1 \pm 1,3$ $p < 0,005$
CD 4+ %	$30,5 \pm 1,1$	$41,4 \pm 1,32$ $p < 0,005$
CD 8+ %	$18,0 \pm 0,5$	$22,8 \pm 0,7$ $p < 0,005$

CD 16 %	$8,7 \pm 1,3$	$11,5 \pm 1,2$ $p < 0,05$
Ig A мг %	$250 \pm 6,5$	$265,2 \pm 6,2$ $p > 0,05$
Ig G мг %	$1502,1 \pm 31,3$	$1575,2 \pm 30,5$ $p > 0,05$
Ig M мг %	$175,7 \pm 9,6$	$182,1 \pm 7,8$ $p > 0,05$
Нейтрофильный фагоцитоз %	$52,1 \pm 2,3$	$67,3 \pm 6,1$ , $p < 0,005$

ИЗ таблицы видно влияние ПО на иммунологические показатели, где достоверно увеличивается клеточный иммунитет и уровень иммунокомпетентных белков. Следует отметить, что введение в композицию аминокислот (валин и лизин, а также изолейцин, кроме того комбинацию, состоящую не менее, чем из 2-х аминокислот, выбранных из группы: фенилаланин, лейцин, аланин, треонин, гистидин, аргинин, метионин) во всех предложенных нами сочетаниях ускоряло реэпителизацию пораженных тканей (от 15 до 36% по сравнению с прототипом, см. выше) в зависимости от вида вируса. Введение в композицию полиоксидония совместно с аминокислотами не только активизировало иммунитет, что позволило значительно продлить период ремиссии, ускорить процесс реэпителизации и заживления кожи, а в некоторых случаях практически добиться излечения некоторых хронических форм заболевания у отдельных животных (12% из всех испытуемых).

Композиция, охарактеризованная выше, может быть выполнена в виде лекарственных форм, в которых в качестве носителя используют твердые, мягкие или жидкие вещества.

Композиция при использовании твердых носителей конечная форма представляет собой таблетку, драже, гранулу, саше или порошок, помещенный в капсулу.

Композиция при использовании жидких носителей конечный продукт представляет собой раствор, гель, эмульсию, суспензию, микстуру, сироп или линимент.

Композиция при использовании мягких носителей представляет собой мазь, крем, пасту, суппозиторий, имплантант или жевательную таблетку, или пастилку.

Получение названных фармацевтических форм проводилась с помощью стандартных процедур и обычно принятых в таких случаях вспомогательных веществ.

Другим объектом изобретения является способ приготовления суппозитория на основе вышеназванной фармацевтической композиции с помощью стандартной технологии изготовления свечей, при этом в массу свечи на основе масла какао, дополнительно вносят активные компоненты вышеописанной фармацевтической композиции по стандартной технологии, и 2-3 микроэлемента, выбранных из группы: цинк, хром, селен и никель. Набор микроэлементов в виде растворимых хелатных форм вводят в состав суппозитория в количестве 0,01-0,08 % на общую массу.

Результаты испытания полученных суппозитория на группе из 76 экспериментальных животных показали, что использование нового препарата не только активизировало иммунитет, но позволило значительно продлить период ремиссии, ускорить процесс реэпителизации и заживления кожи и слизистых тканей, а в некоторых случаях практически добиться излечения заболевания у отдельных индивидуумов (12% из всех испытуемых хронической формой заболевания).

По нашему мнению, немаловажную роль в этом результате сыграло включение в состав суппозитория жизненно важных ингредиентов, регулирующих обменные процессы на всех уровнях, а именно: ПО, валин и лизина, изолейцина, стимулирующего выработку клетками кишечника пептидов, блокирующих вирус (типа цекропинов), витаминов всех групп, а также МЭ: цинка, хрома, селена и никеля.

Изобретение подтверждается конкретными испытаниями на животных.

*Основные показатели эффективности ( в сравнении с близким аналогом).* Время достижения местного выздоровления (полная реэпителизация) сократилось на 15-36%, длительность ремиссии увеличилась в среднем до 6-7 мес., отсутствие вируса в мазке (ПЦР-диагностика) в 98,7% случаев, активация противовирусного иммунитета, практически полное излечение в 12% наблюдений за животными.

Среди подопытных животных (герпетический кератит у кроликов, генитальный герпес у морских свинок) 52 индивидуума были поражены вирусом простого (серотипов 1 и 2) герпеса в острой форме, а 24 хронической формой простого герпеса. Животные с острой формой были разделены на три группы: в 1-ой группе проводилось лечение герпетической вакциной, описанной в прототипе, во 2-ой - новой фармацевтической композицией, в контрольной группе животные получали химиотерапию в виде мазей и растворов, содержащих известные антигерпесные

препараты. Группа животных с хронической формой получала новые суппозитории с полным набором аминокислот, витаминов и микроэлементов.

*Результаты.* – В 1-ой группе полная реэпитализация наступала в среднем на 6-ой день лечения, в то время как во 2-ой группе полная реэпитализация отмечалась в среднем уже на 4-5-й день лечения. В группе контроля полное местное выздоровление констатировалось в среднем на 7-10-ый день от начала лечения. При этом вирус в контрольных мазках не определялся у 95,2% 1-ой группы, у 97,8% 2-ой группы и у 92,5% группы контроля. Длительность ремиссии до 4-х месяцев, состоялась в 92 % случаев в первой группе и до 6-7 месяцев в 85% случаев во второй группе. В тоже время в группе контроля длительность ремиссии до 4-месяцев состоялась лишь в 28%. Высокоинтенсивный иммунный ответ регистрировался в 1-ой группе в 92,1% случаев, тогда как во 2-ой группе в 98,6% при четкой достоверности ( $p < 0,01$ ). Так в сыворотке крови подопытных обеих групп (у второй группы на 11 – 18 % выше) после лечения отмечалась тенденция к увеличению процентного и абсолютного содержания естественных киллерных клеток, цитотоксических Т-лимфоцитов фенотипов CD8+, а также выявлялась активация вирус-индуцированного ИФ а (индекс фагоцитоза) митоген-индуцированного ИФ g .

Полученную фармацевтическую суспензию, взятую в количестве 20мл смешивают с 0,01-0,03 мл каждого из растворов солей 2-3-х МЭ и маслом какао до общей массы 100г, из полученной массы изготавливают известным способ свечи массой 0,15 – 0,20 г каждая. Свеча содержит  $\leq 400$  мкг /г белка, имеет остаточную влажность  $\leq 2,2$  % и физиологическое значение pH  $7,3 \pm 0,2$ , нетоксична и способна индуцировать у крыс синтез антител, нейтрализующих вирусы, при индексе нейтрализации, равном  $3,0 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$  по ВПГ-1 и  $2,0 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$  по ВПГ-2, где  $\text{ТЦД}_{50}$  означает дозу, вызывающую цитопатический эффект в 50% инфицированных вирусом пробирок с монослоем клеток.

Благодаря созданию новой высокоиммуногенной композиции, сохраняются антигенность и стабильность специфической активности препарата, усиливаются антигерпетические свойства отдельных органов на клеточном уровне, повышается и пролонгируется сопротивляемость организма не только при острой, но и хронической герпесной инфекции.



## Литература

1. Д.А.Харкевич «Фармакология», ГЭОТАР-МЕД, 2002г., стр.549-550.
2. Хаитов Р.М. «Иммуногенетика и иммунология: резистентность к инфекции», Ташкент, 1991
- 5 3. Петров Р.В., Хаитов Р.М. «Вакцины нового поколения на основе синтетических полионосов: история создания, феноменология и механизмы действия, внедрение в практику». International journal on immunorehabilitation. – 1999, N11, p. 13 – 36.
4. Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г., «Иммунология», М., 2000
- 10 5. Horwitz A.H., Williams R.E., Liu P.-S, Nadell R. «Antimicrob. Agents Chemother.», 1999, 43, 2314-2316 .
6. Скальный А.В. «Микроэлементозы человека (диагностика и лечение)», Москва, 1997.
7. Хаитов Р.М. и др. «Экологическая иммунология», Москва, 1995

15

20

25

30

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Фармацевтическая противогерпетическая композиция, включающая вирионный вакцинный антигерпетический препарат, в котором содержатся вирусы простого герпеса серотипов 1 или 2, инаktivированные формалином или  $\gamma$ -излучением и

5 иммунокомпетентное вещество, отличающаяся тем, что содержит полиоксидоний, валин, лизин, а также комбинацию, состоящую не менее, чем из 2-х метаболических аминокислот, выбранных из группы: фенилаланин, лейцин, аланин, треонин, гистидин, аргинин, метионин при следующем соотношении компонентов:

10	антигерпетический препарат	–	$10^6$ – $10^7$	бляшкообразующих единиц/мл суспензии
	полиоксидоний	-	0,03 – 0,06 г	
	валин	-	0,18 – 0,25 г	
	лизин	-	0,15 – 0,30 г	
	комбинация из метаболических аминокислот	-	0,12 – 0,27 г	
15	физиологическая жидкая среда	-	до 100 мл	

2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что дополнительно содержит аминокислоту изолейцин в количестве 0,11 – 0,22 г на 100 мл композиции.

3. Композиция по п. 2, отличающаяся тем, что дополнительно содержит альбумин человеческий в количестве 0,22 – 0,24 г на 100 мл.

20 4. Композиция по п. 3, отличающаяся тем, что дополнительно содержит один или более водо- и жирорастворимых витаминов, выбранных из группы: тиамин, рибофлавин, никотинамид, пиридоксин, аскорбиновая кислота, ретинол, токоферол или их смеси в общем количестве в составе композиции от 0,05 до 3,5%.

25 5. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что может быть выполнена в виде лекарственной формы, в которой в качестве носителя используют твердое, мягкое или жидкое вещество.

6. Композиция по п.5, отличающаяся тем, что при использовании твердого носителя конечная форма представляет собой таблетку, драже, гранулу, саше или порошок, помещенный в капсулу.

30 7. Композиция по п.5, отличающаяся тем, что при использовании жидкого носителя конечный продукт представляет собой раствор, гель, эмульсию, суспензию, микстуру, сироп или линимент.

8. Композиция по п.5, отличающийся тем, что при использовании мягкого носителя конечный продукт представляет собой мазь, крем, пасту, суппозиторий, имплантат, жевательную таблетку или пастилку.

9. Способ приготовления суппозитория на основе фармацевтической композиции, охарактеризованной в пунктах 1-4, включающий смешивание по стандартной технологии активных компонентов и масла какао в качестве носителя, отличающийся тем, что в качестве активных компонентов вносят композицию, указанную в пунктах 1- 4 и один или несколько микроэлементов (МЭ), выбранных из группы: цинк, хром, селен и никель.

10. Способ по п.9, отличающийся тем, что МЭ вносят в виде растворимых хелатных форм в количестве 0,01-0,08 % на общую массу композиции.

11. Способ использования фармацевтической противогерпетической композиции путем введения ее в организм, пораженный вирусом герпеса, отличающийся тем, в организм вводят композицию, охарактеризованную в пунктах 1-8, в эффективной дозе в виде подходящей лекарственной формы подходящим путем, выбранным из группы: перорально, сублингвально, интраназально, ректально, вагинально, парентерально, субконъюнктивально или в форме для разжевывания.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/RU 2004/000414

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A61K 39/245, 35/76, 9/02, 39/39, 31/198, 31/787, A61P 31/22		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K 39/245, 35/76, 9/02, 33/39, 31/198, 31/787, A61P 31/22		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	RU 2142816 C1 (BARINSKY IGOR FELIXOVICH et al) 20.12.1999	1-11
A	BARINSKY I. F. et al. Sposobnost polioxidoniya povyshat immunogennost herpesvirusnykh vaks. Innunologiya, Meditsina, 2001, no. 2, pages 17-20	1-11
A	RU 2197969 C1 (MOKEEVA MARINA VIKTOROVNA) 10.02.2003	1-11
A	US 6471965 A (GOLUBEV et al) 29.10.2002	1-11
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search (11.01.2005)		Date of mailing of the international search report (27.01.2005)
Name and mailing address of the ISA/ <b>RU</b>		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

# ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Международная заявка №  
PCT/RU 2004/000414

## А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

Согласно международной патентной классификации (МПК-7) А61К 39/245, 35/76, 9/02, 39/39, 31/198, 31/787, А61Р 31/22

## В. ОБЛАСТИ ПОИСКА:

Проверенный минимум документации (система классификации и индексы) МПК-7:  
А61К 39/245, 35/76, 9/02, 33/39, 31/198, 31/787, А61Р 31/22

Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки:

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, поисковые термины):

## С. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	RU 2142816 C1 (БАРИНСКИЙ ИГОРЬ ФЕЛИКСОВИЧ и др.) 20.12.1999	1-11
A	БАРИНСКИЙ И.Ф. и др. Способность полиоксидония повышать иммуногенность герпесвирусных вакцин. Иммунология, Медицина, 2001. №2, с. 17-20	1-11
A	RU 2197969 C1 (МОКЕЕВА МАРИНА ВИКТОРОВНА) 10.02.2003	1-11
A	US 6471965 A (GOLUBEV et al) 29.10.2002	1-11

☐ последующие документы указаны в продолжении графы С.

☐ данные о патентах-аналогах указаны в приложении

\* Особые категории ссылочных документов:

A документ, определяющий общий уровень техники

E более ранний документ или патент, но опубликованный на дату  
международной подачи или после нее

C документ, относящийся к устному раскрытию, экспони-  
рованию и т.д.

P документ, опубликованный до даты международной по-  
дачи, но после даты испрашиваемого приоритета  
и т.д.

T более поздний документ, опубликованный после даты  
приоритета и приведенный для понимания изобретения

X документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету  
поиска, порочащий новизну и изобретательский уровень

Y документ, порочащий изобретательский уровень в соче-  
тании с одним или несколькими документами той же  
категории

& документ, являющийся патентом-аналогом

Дата действительного завершения международного  
поиска: 11 января 2005 (11.01.2005)

Дата отправки настоящего отчета о международном поиске:  
27 января 2005 (27.01.2005)

Наименование и адрес Международного поискового органа  
Федеральный институт промышленной  
собственности

РФ, 123995, Москва, Г-59, ГСП-5, Бережковская наб.,  
30.1 Факс: 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА

Уполномоченное лицо:

Н.Хрусталева

Телефон № 240-25-91

Форма PCT/ISA/210 (второй лист)(январь 2004)